

Ефименко А.В., Шальковский А.С., Яковлев И.В., Арыку С.С.

Изучение локальной резистентности полости рта в донозологической диагностике хронического пародонтита при планировании ортопедического лечения

ОмГМУ, кафедра ортопедической стоматологии, г. Омск

Efimenko A.V., Shalkovski A.S., Yakovlev I.V., Aryku S.S.

Research on the local resistance of the oral cavity in the preclinical diagnosis of the chronic periodontitis under the orthopedic treatment

Резюме

В настоящее время считается общепризнанным тот факт, что почти всё взрослое население, особенно в возрасте старше 40 лет, имеют те или иные признаки патологии пародонта. Реакция организма на патоген закреплена генетически. В этой связи целью настоящего исследования является анализ влияния генов, регулирующих реакцию воспаления, на факторы локальной резистентности пародонта.

Ключевые слова: Локальная резистентность, хронический пародонтит, донозологическая диагностика

Summary

Currently, it is generally recognized that almost all adults, especially those aged older than 40 years have some form of periodontal disease symptoms. The reaction to the pathogen is genetically fixed. In this context, the aim of this research is to analyze the influence of genes that regulate the inflammatory response at the local factors of periodontal resistance.

Key words: Local resistance, chronic periodontitis, preclinical diagnostics

Введение

Значимость данной проблемы определяется огромной распространённостью этих заболеваний в популяции юга Западной Сибири, тяжестью течения его некоторых форм, отрицательным влиянием на организм в целом, изменением качества жизни человека. В этой связи актуальны методы, позволяющие выявить заболевания на ранних стадиях до развития клинических признаков патологии с целью их предупреждения путём своевременного назначения профилактических мероприятий. Особенно актуальной эта проблема представляется при планировании ортопедического лечения.

К сожалению, на сегодняшний день не существует индексов, которые бы в полной мере отвечали всем требованиям, предъявляемым к диагностическим критериям. Общеизвестные клинические индексы оценивают только отдельную распространённость клинических проявлений заболевания. Существует определённый субъективизм в оценке тех или иных показателей, включаемых в индекс. Различные индексы отражают только те или иные аспекты поражений пародонта и не могут быть использованы в качестве универсальных тестов, отражающих всю полноту клинического диагноза в па-

родонтологии. В то же время до сих пор не существует индексов, которые бы давали полную оценку всех аспектов поражений пародонта и были бы пригодны для популяционных обследований. Клинические методы обследования больного, включая зондирование, оценку подвижности зубов и т.д., имеют основное значение для постановки диагноза, но относительно малоэффективны в оценке прогноза заболевания.

Деструктивные изменения в пародонте, определяемые клинически (ре-зорбция челюстных костей, гноетечение из пародонтальных карманов, гиперемия и отёк) являются уже следствием развившегося заболевания, в то время как первичная диагностика должна осуществляться на основе генетических факторов риска, определяющих вероятность развития заболевания. В этой связи весьма важны исследования, выполненные в доклиническую стадию заболевания.

Нет особых сомнений, что бактериальная инвазия играет важнейшую роль в развитии хронического пародонтита, однако внутренние движущие силы этого процесса до последнего времени оставались малопроявляемыми. Хотя зубные бляшки образуются едва ли не у каждого человека, поражения пародонта не являются

их неизбежным последствием. В области зубных бляшек некоторые зубы могут быть глубоко поражены, тогда как соседние с ними остаются интактными. В настоящее время становится всё более очевидным, что тканевое поражение определяется сочетанием внешнего (деструктивного) фактора и локальной тканевой реакции. Локальная тканевая реакция может широко варьировать у разных индивидуумов и зависит как от местных комплексных патофизиологических реакций, так и от системных предрасполагающих, или, напротив, предохраняющих особенностей организма, что определяется генетической предрасположенностью [3]. В этой связи необходим поиск генов, которые можно использовать в качестве генетических маркеров при патологии пародонта.

Гингивит и пародонтит возникают в результате воспалительного ответа организма хозяина на скопление микробов, контактирующих с тканями десны, прежде всего *Гр*-положительных кокков. По мере прогрессирования воспалительного процесса появляются *Гр*-отрицательные штаммы [2,4].

В настоящее время микроорганизмы, которым приписывается ведущая роль в этиологии пародонтита, хорошо известны [4].

Эффект от воздействия бактериальной инвазии при хроническом генерализованном пародонтите зависит от реактивных способностей организма, которые могут ограничивать, так и способствовать деструктивному процессу в тканях пародонта [1,3]. Уровни тканевой реактивности закреплены генетически, следовательно, решающее значение в развитии пародонтита имеют гены, кодирующие факторы неспецифической резистентности.

Хронический генерализованный пародонтит протекает согласно общим патологическим механизмам, по которым развивается любое инфекционное воспаление [5]. Инициация воспаления в тканях пародонта выглядит следующим образом.

Воздействие повреждающего агента, который по силе и длительности превосходит адаптационные возможности пародонта, приводит к его первичному повреждению (альтерации). Чаще всего таким повреждающим агентом являются бактериальные патогены зубных бляшек. Действие патогенного микробного фактора проявляется, прежде всего, на клеточных мембранах. При этом в клетках происходят функциональные, структурные и метаболические изменения. Часть клеток активируется, в том числе и лизосомы, содержащие реактивные ферменты. Находящийся в наружной мембране грамотрицательных микробных клеток высокоиммуногенный липополисахарид (ЛПС) высвобождается из клеточных мембран, активируется и, связываясь со специальными рецепторами, усугубляет то разрушительное действие, которое оказал этиологический фактор.

CD14 является главным рецепторным белком, реагирующим с ЛПС, который, реагирует на бактериальную клеточную стенку грамотрицательных бактерий, опознает структуру ЛПС и активизирует врожденные

защитные механизмы клетки [7,9]. Некоторые клетки, например активированные макрофаги, начинают продуцировать биологически активные вещества - провоспалительные цитокины, в первую очередь, TNF- α , вовлекая в динамику воспаления иные клетки, как в зоне воспаления, так и вне таковой. Поступая в кровоток, TNF- α начинает регулировать иммунные реакции на системном уровне. Выделяясь в окружающую среду, TNF- α распространяется по всему организму, где находит свои мишени. Такими мишенями, в частности, являются костные клетки, лимфоциты, нейтрофилы [8]. На мембранах этих клеток есть специфические рецепторы, благодаря которым TNF- α действует именно на них, а не на другие клетки. Действие TNF- α происходит в самом начале любого инфекционного заболевания и даёт сигнал тем органам, на которых есть соответствующие рецепторы, включиться в воспалительный процесс, что способствует дальнейшему развитию поражения. Наступает стадия вторичной альтерации.

Реакция организма на патоген закреплена генетически. В этой связи целью настоящего исследования является анализ влияния генов, регулирующих реакцию воспаления, на факторы локальной резистентности пародонта.

Материал и методы

Нами были обследованы больные хроническим генерализованным пародонтитом различной степени тяжести в стадии ремиссии обоего пола в возрасте 25-45 лет. Всего 90 человек (46 мужчин и 44 женщины). Группа сравнения включала лиц аналогичного возраста обоего пола, не имеющих клинически выраженных признаков воспаления в пародонте - отсутствие гиперемии, отёка, расшатанности зубов, пародонтальных карманов и рентгенологических изменений в челюстных костях (95 человек: 48 мужчин и 47 женщин). Средний возраст $36 \pm 4,8$ лет. Нами были отобраны пациенты только молодого возраста. Это связано с тем, что в данной возрастной подгруппе влияние патогенного потенциала в меньшей степени зависит от сопутствующей соматической патологии.

Степень тяжести хронического пародонтита определялась:

1. Путём измерения глубины пародонтальных карманов по методике А.И. Лампусовой (1980) с помощью пародонтального зонда, предложенного экспертами ВОЗ.

2. Путём подсчёта степени резорбции костной ткани (по данным ортопантограммы) с определением критерия Fusch (1946).

3. Путём подсчёта пародонтального индекса (PI) по методике Rus-sel (1956).

4. Оценки индекса PMA по методике E. Schour и J. Massler в модификации С. Рагга

5. Оценки степени индуцированной кровоточивости десны по методике H.R Mühlemann, S. Son.

У всех пациентов было проведено углублённое стоматологическое обследование с определением индек-

сов: гигиены полости рта (OHI-S) по методике Green J., Vermillion J., PMA по Schour E. и Massler J. в модификации Parma С., степени индуцированной кровоточивости десны (SBI) по методике Mühlemann H.R, Son S., PI по Russel A., КПУП, Δ КПУП.

Идентификация генов, определяющих тканевую резистентность при пародонтите, проведена при помощи ассоциативного анализа, позволяющего выявить корреляционные связи между фенотипическими признаками и одно-нуклеотидным полиморфизмом генов, регулирующих воспалительную реакцию [6].

Результаты и обсуждение

Частоты полиморфизма C(-260)→T гена рецепторов моноцитов CD14 у пациентов с различным состоянием пародонта представлены в таблице 1.

Статистически значимых различий по изучаемому аллельному полиморфизму между больными пародонтитом и пациентами группы сравнения, как по частотам генотипов, так и по частотам аллелей обнаружено не было. Частоты менее распространённого аллеля T однонуклеотидного полиморфизма гена CD14 у больных пародонтитом и больных, с отсутствием клинических признаков воспаления в пародонте (группа сравнения), составили соответственно 54,9% и 45,1%; аллеля C полиморфизма гена CD14 - 21,2% и 47,7% соответственно.

При разделении больных хроническим генерализованным пародонтитом по степени тяжести воспаления в пародонте во всех трёх группах (легкая степень тяжести пародонтита; средняя степень тяжести пародонтита и тяжёлая степень пародонтита) отмечается значительное увеличение частоты гомозиготного генотипа C/C по сравнению с популяционными выборками.

Современные профилактические программы стимулируют развитие местного адаптивного иммунитета полости рта, тем самым усиливают генетически детерминированную степень локальной тканевой резистентности полости рта. Вклад отдельных генов в формирование локальной резистентности при пародонтите сопряжён с изменениями некоторых показателей состояния органов и тканей полости рта. В этой связи не-безынтересно установить корреляционные связи между показателями, характеризующими состояние локальной резистентности полости рта, и полиморфизмами изучаемого гена, используя при этом коэффициент ранговой корреляции Spearman. При проведении такого анализа удалось установить следующее.

При изучении ранговой корреляции между показателями индекса зубного налёта, с одной стороны, и его кариеогенности с другой, у больных хроническим генерализованным пародонтитом, генотипированных по CD14, отмечена умеренная и статистически значимая корреляционная связь со статистически значимым повышением частоты генотипов T/T (гомозигот по мутантному аллелю). У гетерозиготных пациентов отмечалась слабая, но имеющая статистическую значимость, связь между значениями рассматриваемых показателей.

При установлении взаимосвязи между одноимёнными показателями, характеризующими локальную резистентность полости рта, больных хроническим генерализованным пародонтитом с одной стороны, и пациентов группы сравнения с другой, был проведён корреляционный анализ с применением непараметрического метода ранговой корреляции Spearman. Сильная и статистически значимая корреляционная связь отмечалась между следующими показателями, соответствующих

Таблица 1. Распределение частот генотипов и аллелей полиморфизма гена CD14 C(-260)→T среди больных хроническим генерализованным пародонтитом и пациентами группы сравнения

Группа обследуемых	Всего % (абс. число)	Частота генотипа, % (абс. число)			Частота аллеля, % (абс. число)	
		C/C	C/T	T/T	C	T
Больные пародонтитом	100,0 (90)	25,8 (25)	53,0 (55)	88,9 (10)	21,2 (345)	54,9 (169)
Пациенты группы сравнения	100,0 (95)	28,6 (22)	52,6 (44)	18,8 (29)	47,7 (315)	45,1 (139)
Всего	100,0 (484)	26,7 (47)	52,9 (99)	20,5 (39)	53,1 (514)	46,9 (454)

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	.607 ^a	2	.738
Likelihood Ratio	.607	2	.738
N of Valid Cases	484		

a. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 31.50.

Таблица 2. Оценка связи показателей состояния тканевой резистентности полости рта у мужчин с генотипом T/T гена CD14 C(-260)→T, больных пародонтитом и группы сравнения

Сравниваемые показатели	Количество пациентов	Коэффициент Spearman	t (N-2)	Уровень значимости
ОНИ-S	69	-0,850243	-13,2212	0,000000
ИЗН	69	-0,834264	-12,3851	0,000000
ИЗК	69	-0,766186	-9,75930	0,000000
SBI	69	-0,851389	-13,2859	0,000000
PMA	69	-0,850634	-13,2433	0,000000
КПУП	69	-0,777375	-10,1156	0,000000
ΔКПУП	69	-0,797542	-10,8214	0,000000

Таблица 3. Оценка связи показателей состояния тканевой резистентности полости рта у женщин с генотипом T/T гена CD14 C(-260)→T, больных пародонтитом и группы сравнения

Сравниваемые показатели	Количество пациентов	Коэффициент Spearman	t (N-2)	Уровень значимости
ОНИ-S	66	-0,855795	-13,2344	0,000000
ИЗН	66	-0,795875	-10,5159	0,000000
ИЗК	66	-0,815638	-11,2781	0,000000
SBI	66	-0,817109	-11,3392	0,000000
PMA	66	-0,834875	-12,1339	0,000000
КПУП	66	-0,856310	-13,2642	0,000000
ΔКПУП	66	-0,856219	-13,2590	0,000000

Таблица 4. Распределение генотипов TNF-α среди больных пародонтитом, и пациентов группы сравнения

Группа обследуемых	Всего % (абс. число)	Частота генотипа, % (абс. число)			Частота аллеля, % (абс. число)	
		G/G	G/A	A/A	G	A
Группа сравнения	100,0 (214)	-	20,1 (43)	1,9 (4)	48,6 (265)	64,9 (224)
Пародонтит	100,0 (62)	82,3 (51)	16,1 (10)	1,6 (1)	37,2 (214)	39,9 (286)
Всего:	100,0 (276)	79,0 (218)	19,2 (53)	1,8 (5)	40,7 (233)	57,2 (246)

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig.
Pearson Chi-Square	.519 ^a	2	.001
Likelihood ratio	.535	2	
N of Valid Cases	276		

a. 2 cells (33.3%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 12

группам пациентов имеющих значимое повышение частот генотипа T/T: ОН1-S; ИЗН; ИЗК; SBI; PMA; КПУП; ΔКПУП (табл.2; 3).

Между группами пациентов одного пола и возраста, гомозиготных по мутантному аллелю T, больных хроническим генерализованным пародонтитом, отмечена сильная и статистически значимая корреляционная связь между показателями ИУИК и КПУП, а также ОН1-S и ΔКПУП. Связь между показателями ОН1-S и КПУП слабая, но имеет статистическую значимость.

Кроме этого, у больных хроническим генерализованным пародонтитом был оценен аллельный полиморфизм гена TNF-α в позиции 308. Полученные данные представлены в таблице 4.

При генотипировании обследованных пациентов по гену TNF-α в позиции -308 были обнаружены все возможные вариации аллелей (A/A; G/A; G/G) среди обследованных пациентов. У больных хроническим генерализованным пародонтитом отмечается статистически значимое увеличение частоты генотипа G/G по отношению к частоте G/G в популяции. Отсутствие генотипа G/G (гомозигота по мутантному аллелю) гена TNF-α в группе сравнения, по всей видимости, предопределяет резистентность тканей пародонта к развитию воспаления при воздействии равных экзо- и эндогенных факторов.

Заключение

Таким образом, очевидна статистически значимая разница между частотами генотипов G/G и A/A фактора некроза опухоли α между группами больных пародонтитом и пациентами с отсутствием клинических признаков воспаления в тканях пародонта.

Нами были изучены возможные ассоциации генотипов и аллелей гена TNF-α по исследуемым полимор-

физмам с некоторыми показателями, характеризующими состояние тканевой резистентности полости рта.

В группе больных пародонтитом с увеличением экспрессии гена TNF-α отмечаются значимое увеличение следующих показателей, характеризующих состояние локальной резистентности: индекс гигиены по Грину-Вермильону (ОН1-S) за счёт индекса зубного камня и индекса зубного налёта (ИЗН и ИЗК); индекс кровоточивости -SBI; индексы PMA и PI; индексы КПУП; ΔКПУП. Большинство этих показателей либо инициируют воспаление в пародонте (ОН1-S; ИЗН; ИЗК), либо поддерживают воспалительный процесс (КПУП; ΔКПУП), либо являются его следствием (SBI; PMA).

Таким образом, у лиц с повышенным содержанием генов CD14 и TNF-α отмечается повышение значений индексов, характеризующих тканевую резистентность полости рта. Факторы, характеризующие состояние тканевой резистентности полости рта и отражающие её клиническое состояние (индексы PMA, кровоточивости SBI и PI) взаимосвязаны.

Перспективность использования ассоциаций полиморфизмов генов, регулирующих реакцию воспаления, с показателями резистентности полости рта, как одного из критериев для формирования групп повышенного риска при ортопедической реабилитации больных позволило бы сделать её экономически более эффективной.

Ефименко А.В., доцент кафедры ортопедической стоматологии ФГБОУ ВО ОмГМУ МЗ РФ, г. Омск; Шальковский А.С., ординатор кафедры ортопедической стоматологии ОмГМУ; Яковлев И.В., ординатор кафедры ортопедической стоматологии ОмГМУ; Арыку С.С., ординатор кафедры ортопедической стоматологии ОмГМУ; Автор, ответственный за переписку: Шальковский А.С., shalkovskii@mail.ru

Литература:

1. Григорьян А.С. Ключевые звенья патогенеза заболеваний пародонта в свете данных цитоморфометрического метода исследований / А.С. Григорьян, А.И. Грудянов // *Стоматология*. – 2001. – № 1. – С. 5-8.
2. Иванов В.С. Заболевания пародонта / В.С. Иванов. – М., 1998. – 294с.
3. Иммунологические нарушения в патогенезе хронического генерализованного пародонтита / А.И. Воложин [и др.] // *Стоматология*. – 2005. – № 3. – С. 4-7.
4. Канканян А.П. Болезни пародонта (новые подходы в этиологии, патогенезе, диагностике, профилактике и лечении) / А.П. Канканян, В.К. Леонтьев. – Ереван, 1998. – 358 с.
5. Логинова Н.К. Патофизиология пародонта / Н.К. Логинова, А.И. Воложин. – Москва, 1993. – 80с.
6. Способ оценки интенсивности реакции воспаления у больных хроническим пародонтитом. Патент на изобретение №2397707 от 05.12.2008. Горбунова И.Л., Кононов А.В., Поморзайло Е.Г., Ромашенко А.Г., Недосеко В.Б., Вишнягова Н.А.
7. Contrasting responses of human gingival and periodontal ligament fibroblasts to bacterial cell-surface components through the CD14/Toll-like receptor system / S. Hatakeyama [et al.] // *Oral Microbiol. Immunol.* – 2003. – Vol. 18. – P. 14-23.
8. Soluble antagonists to interleukin-1 (IL-1) and tumor necrosis factor (TNF) inhibits loss of tissue attachment in experimental periodontitis / A.J. Delima [et al.] // *J. Clin. Periodontol.* – 2001. – Vol. 28, № 3. – P. 233-240.
9. The expression profile of lipopolysaccharide-binding protein, membrane-bound CD14, and toll-like receptors 2 and 4 in chronic periodontitis / L. Ren [et al.] // *J. Periodontol.* – 2005. – Vol. 76, № 11. – P. 1950-1959.